



# Влияние экзогенных конечных продуктов глубокого гликирования на первичный метаболит культуры *Rhizobium leguminosarum*.

Кузнецова А.<sup>1\*</sup>, Шумилина Ю.<sup>1</sup>, Династия Е.<sup>1,2,3</sup>, Илинг К.<sup>4</sup>, Попова В.<sup>1,2</sup>, Гришина Т.<sup>1</sup>, Васко Видал А.<sup>2</sup>, Зинц А.<sup>4</sup>, Вестерманн Б.<sup>2</sup>, Фролов А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра Биохимии, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Институт биохимии растений им. Лейбница, Департамент Биоорганической Химии, Халле, Германия; <sup>3</sup>Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; <sup>4</sup>Университет им. Мартина Лютера Галле-Виттенберг, Халле, Германия

alena\_kyy@mail.ru

## Введение

Ризобийные бактерии - это азотфиксирующие почвенные микроорганизмы, способные образовывать симбиотические ассоциации - клубеньки на корнях бобовых растений. Являясь одним из партнеров симбиоза, они в значительной степени оказывают влияние на урожайность бобовых культур. Показано, что старение и стресс у растений сопровождаются накоплением конечных продуктов глубокого гликирования (КПГГ) [1]. Однако вопрос влияния экзогенных КПГГ на метаболизм ризобий остается малоизученным. Поэтому, целью данной работы было изучение влияния экзогенных КПГГ, в частности N<sup>ε</sup>-(5-метил-4-имидазолон-2-ил)орнитина (MG-H1), на метаболит ризобий.

## Методы

Биологическим объектом исследования являлся штамм *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* rcam1026 (*R.leg* 1026), а в качестве конечного продукта глубокого гликирования использовали N<sup>ε</sup>-(5-гидро-5-метил-4-имидазолон-2-ил)-орнитин (MG-H1).

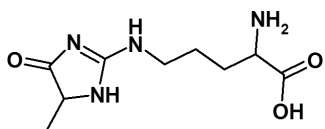


Рисунок 1 Структурная формула N<sup>ε</sup>-(5-гидро-5-метил-4-имидазолон-2-ил)-орнитина (MG-H1).

Культура *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* RCAM1026 была проинкубирована с 25 мкмоль/л MG-H1 в течение 0, 5 и 18 часов. Из ризобий были выделены первичные метаболиты методом водно-метанольной экстракции. Анализ первичных метаболитов проводился при помощи газовой хроматографии, сопряженной с квадрупольной масс-спектрометрией с ионизацией электронным ударом (EI-Q-MS). Поиск и идентификация метаболитов были проведены с использованием программных пакетов AMDIS, MSDIAL и Xcalibur 3.0, а также программного обеспечения MetaboAnalyst.

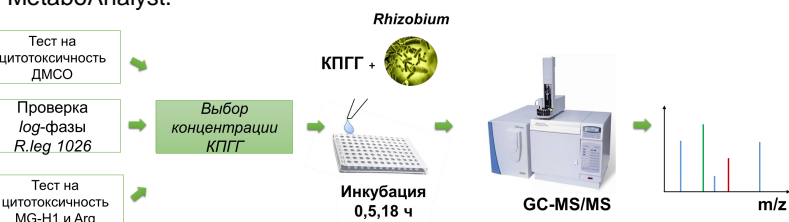


Рисунок 2 Схема эксперимента по изучению влияния экзогенных КПГГ на первичный метаболит ризобий.

## Результаты

Были проведены сравнения первичных метаболитов внутри контрольной и экспериментальной групп, а также внутри групп по времени инкубации (рисунок 3). Всего было достоверно обнаружено 62 первичных метаболита в экспериментальных и контрольных пробах.

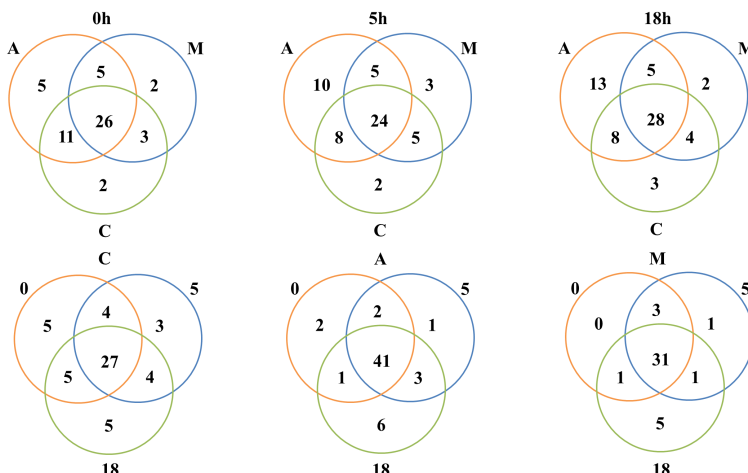


Рисунок 3 Диаграммы Венна, показывающие общее и специфическое количество метаболитов в пробах *R. Leguminosarum*, инкубированных с аргинином (A), MG-H1 (M) и в контрольных пробах (C) в течение 0, 5 и 18 часов.

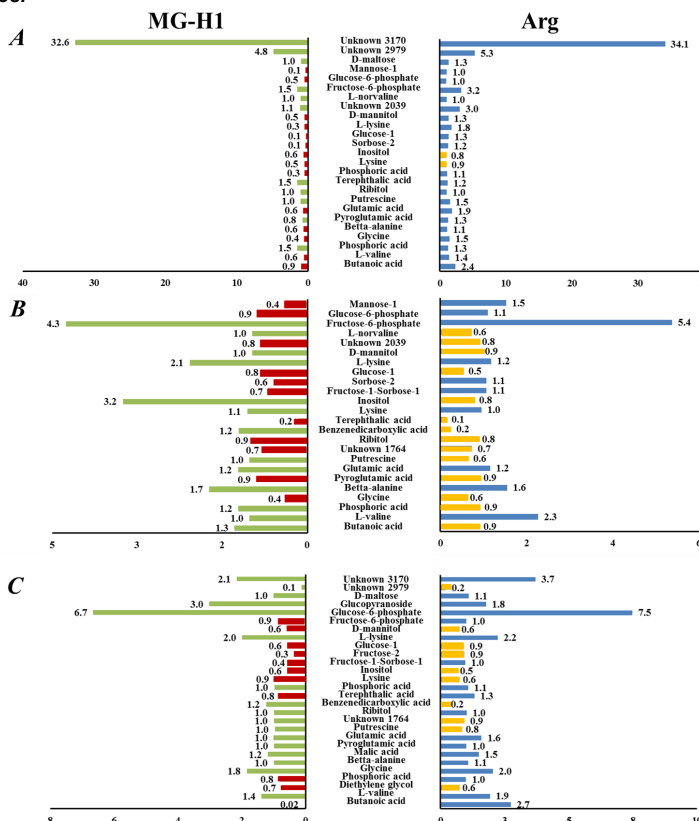


Рисунок 4 Диаграмма, демонстрирующая во сколько раз увеличилось (зеленый и синий) или уменьшилось (красный и оранжевый) количество первичных метаболитов в пробах *R. leguminosarum*, содержащих аргинин (Arg) и MG-H1, по сравнению с контрольными пробами. А - 0, В - 5, С - 18 часов инкубации. Числовое значение 1.0 означает, что количество метаболитов осталось неизменным.

## Выводы

В ходе анализа экспериментальных и контрольных образцов *R. leguminosarum* было обнаружено 62 первичных метаболита. При этом, добавление MG-H1 в питательную среду вызвало изменения в первичном метаболоме ризобий, выражающиеся в усилении процессов энергетического обмена. Однако механизмы, лежащие в их основе, еще предстоит выяснить.

1.Paude, G. et al. Osmotic stress is accompanied by protein glycation in *Arabidopsis thaliana*. J Exp Bot. 2016;67:6283-6295.)

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 18-016-00190).